

Corso di

PROPRIETA' DI BIOPOLIMERI

Prof. Ranieri Urbani

a.a. 2023-2024

INTRODUZIONE

Problematiche generali:
Struttura e funzione di un biopolimero
Rigidità e flessibilità. Strutture estese o a gomito

MODIFICAZIONI CHIMICHE:

Degradazione/depimerizzazione parziale della struttura
Perdita/formazione di gruppi funzionali
Formazione di ponti intracatena

MODIFICAZIONI CONFORMAZIONALI

(interazione con solventi, pH, T, ioni, piccole molecole...)
Denaturazione
Transizione conformazionale
Associazione/agggregazione di catene

PROPRIETA' MACROMOLECOLARI

Peptidi: definizione degli angoli torsionali.
Interazione tra atomi legati
Interazione tra atomi non-legati
Rigid geometry approximation
Catene polipeptidiche
Mappe di Ramachandran
Proprietà conform. di carboidrati, Mappe di Ramachandran

PREDIZIONE delle STRUTTURE

Meccanica e Dinamica Molecolare
Metodo Monte Carlo di predizione della conformazione di catene

STRUTTURA PRIMARIA

PROTEINE

Amino acidi, Monomeri R ed S
Proprietà acido-base di aminoacidi e peptidi
Titolazione di amino acidi. Determinazione delle costanti di equilibrio
Punto isoelettrico
Legame peptidico
Chiralità
Classi di a.a.
Catene polipeptidiche

DNA / RNA

Monomeri
Basi, nucleotidi
Interazione tra basi
Legame difosfoestereo

Catena polinucleotidica

CARBOIDRATI

- C chirale, stereoisomeri ed enantiomeri
- Aldosi/chetosi
- Strutture cicliche Proiezioni di Haworth.
- Conformazione monosaccaridi. Sedia , barca, twist, busta.
- Carbonio anomero
- Legame glicosidico
- Polisaccaridi: composizione, sequenza, concatenamento, anomeria.

PROPRIETA' CONFORMAZIONALI:

STRUTTURA SECONDARIA

- gerarchia dei livelli di organizzazione
- Interazioni deboli che stabilizzano le conformazioni
- Forze di dispersione di London
- Parametri di un'elica

PROTEINE

- L'alfa elica
- Foglietto beta
- Ripiegamento beta
- Esempi proteine, AFM, SEM

POLISACCARIDI

- proprietà strutturali
- Strutture elicoidali di polisaccaridi
- Effetto anomero
- Effetto eso-anomero

STRUTTURA TRIDIMENSIONALE DEGLI ACIDI NUCLEICI:

- Struttura primaria di DNA ed RNA
- Le regole di Chargaff
- La tripla elica di Pauling
- Conformazioni tautomeriche delle basi
- Isomorfismo geometrico delle coppie di basi
- Puckering del furanosio
- 1953: La doppia elica del DNA di Watson e Crick
- Parametri delle doppie eliche
- Struttura terziaria del DNA e RNA (cenni)

FOLDING PROTEICI E DENATURAZIONE

- Folding proteico e struttura primaria di proteine
- 1957: esperimento di Anfinsen
- Paradosso di Levinthal
- Considerazioni energetiche e cinetiche
- La componente idrofobica
- Il misfolding e le malattie "conformazionali"

STRUTTURA TERZIARIA E QUATERNARIA DI PROTEINE

- Esempi
- Architettura della struttura terziaria: motivi e domini
- Motivi alfa e beta (esempi)

APPROCCI BIOINFORMATICI DI PREDIZIONE

- Scale di aminoacidi
- Supporti informatici on-line (esempio: EXPASY)
- Le scale di idropatia (Kyte-Doolittle)
- Previsione della struttura secondaria: metodi di prima e seconda generazione
- Previsione della struttura secondaria: metodo di Chou-Fassman

PREDIZIONE DELLA STRUTTURA SECONDARIA, TERZIARIA QUATERNARIA E DELLA FUNZIONE DELLE PROTEINE

- Simmetria delle strutture quaternarie: esempi
- Evoluzione convergente e divergente
- Omologia e similitudine
- Fold Recognition
- Allineamento di sequenze
- Esempio: Metodo GOR (1978)

ELETTROFORESI

- Principi ed equazioni fondamentali
- Applicazioni ai biopolimeri
- Gel per elettroforesi
- Elettroforesi denaturante: SDS-PAGE
- Preparazione di un'elettroforesi su gel
- Colorazione
- Essiccamento del gel
- Determinazione dei PM di polipeptidi
- Tecnica di focalizzazione isoelettrica (IEF)
- Elettroforesi 2D
- Elettroforesi capillare (CE)
- Pulsed-Field Gel Electrophoresis

DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI ACIDI NUCLEICI

- Metodo di Sanger

DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI PROTEINE

- Lisi delle proteine con metodi enzimatici (mappa triptica)
- La degradazione di Edman
- Composizione mediante HPLC

SPETTROMETRIA DI MASSA

DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI UN POLISACCARIDE

- Composizione monosaccaridica: natura e rapporti molare
- Concatenazione del legame glicosidico e delle eventuali ramificazioni
- Configurazione anomeric: configurazione α o β del legame glicosidico
- Sequenza di monosaccaridi nell'unità ripetitiva

SPETTROSCOPIA UV-VISIBILE DI BIOPOLIMERI

- Cromofori importanti in molecole biologiche
- Spettri UV di proteine e acidi nucleici
- Denaturazione del DNA e di proteine

DICROISMO CIRCOLARE

- L'attività ottica e la rotazione ottica
- Il polarimetro
- Dispersione ottica rotatoria (ORD)
- Spettroscopia di dicroismo circolare
- Unità di misura e sensibilità. Ellitticità molare
- Lo spettro CD per strutture secondarie

SPETTROSCOPIA DI FLUORESCENZA

- Spettro di fluorescenza
- Diagramma di Jablonsky delle transizioni
- Cinetica delle transizioni
- Rendimento quantico
- Condizioni fotostazionarie o transienti
- Decadimento di fluorescenza
- Biomolecole fluorescenti
- Strumentazione
- Quenching collisionale o statico
- Equazione di Stern-Volmer
- Fluorescenza di proteine
- Sonde fluorescenti per proteine e per acidi nucleici

CALORIMETRIA DSC E ITC.

- Deconvoluzione di termogrammi
- Termodinamica delle transizioni

RICHIAMI DI TERMODINAMICA

- Transizione tra due stati
- Grafico di Van't Hoff
- Proprietà misurabili
- Reagenti identici

TRANSIZIONE ELICA-GOMITOLO

- Curve di transizione ordine-disordine
- Variabili chimico-fisiche nelle transizioni conformazionali
- Processi cooperativi
- Esempio: fusione del DNA
TC di polisaccaridi
- Meccanismo molecolare della transizione di peptidi
- Interazione tra i dipoli ammidici. Contributi entropici
- Modello di Schellman, grado di cooperatività
- Modello "a cerniera" (Zipper model) di Zimm-Brag (a basso ed alto PM)
- Elicità frazionaria e probabilità

TERMODINAMICA DEL LEGAME CON SUBSTRATI

- Modelli di binding biopolimero-ligando
- Costante macroscopica e microscopica
- Siti indipendenti ed identici
- Scatchard plot
- Scatchard plot non-lineari
- Modello di Hill